

Uso de isótopos estables para el seguimiento de la eutrofización en masas de agua costeras de la provincia de Alicante



2021

Han intervenido en este informe:

José Luis Sánchez Lizaso (Coordinador)

Yolanda Fernández Torquemada

Fabio Blanco Murillo

Estela Carbonell Garzón

Federico Abad Guillén

Javier Aguilar Escribano

Mercedes Varela Diaz de Tuesta

Ivan Sola Maciá

1. Introducción general

Durante el último siglo el desarrollo demográfico en las zonas costeras y estuarinas ha producido, como consecuencia, un incremento del impacto sobre los ecosistemas en estos hábitats a escala mundial (Lotze et al., 2006). La diversidad de usos y servicios que se obtienen de las zonas costeras lleva aparejado un amplio abanico de diferentes presiones sobre las comunidades marinas dando lugar a efectos sinérgicos (Boesch, 2001; Crain et al., 2008).

De los diferentes impactos del ser humano sobre el medio marino, la contaminación ambiental y la pérdida de calidad de las aguas, están entre las principales amenazas para la conservación de los ecosistemas. Por eso, la determinación del origen y el efecto de los contaminantes presentes al medio es crucial para una correcta gestión y preservación de los ecosistemas. Así, una de las principales herramientas que se pueden hacer servir es el uso de bioindicadores que actúen como centinelas, permitiendo detectar de forma precisa y precoz la afección de un determinado agente en el medio (Bonanno et al., 2020).

Cymodocea nodosa es una fanerógama marina de amplia distribución al Mediterráneo, de crecimiento relativamente rápido y de amplia tolerancia a estresores ambientales en comparación con otras fanerógamas marinas (Perez et al., 1994), incluso frente a sinergias entre estos (Egea et al., 2018). Estas características convierten a *C. nodosa* en un buen organismo modelo para detectar la asimilación de contaminantes en el medio marino (Bonanno et al., 2020; Bonanno & Borg, 2018; Marín-Guirao et al., 2005).



Figura 1: Pradera de Cymodocea nodosa

Para evaluar el estado y detectar el efecto de un posible impacto en un organismo bioindicador, es necesario medir diversos descriptores tanto a escala poblacional, como individual e incluso bioquímica o molecular (Martínez-Crego et al., 2008).

Además de conocer los efectos de un contaminante es fundamental conocer su procedencia y contribución. Es decir, no solo medir los efectos del desarrollo humano sobre el medio, sino también tener la capacidad de trazar esas fuentes de contaminación (Kendall et al., 2007). Con esta finalidad, el análisis de isótopos estables puede presentarse como una herramienta de gran utilidad (Fry, 2006; Mancinelli & Vizzini, 2015).

En el medio marino, el análisis de isótopos estables (AIE) se utiliza para el estudio de niveles tróficos, especies invasoras, dinámica sedimentaria, nutrientes, etc; pero, sobre todo, para el análisis y la trazabilidad de contaminación química (Mancinelli & Vizzini, 2015).

La huella isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ de los tejidos vegetales puede permitir asociar una fuente contaminante con un productor primario receptor (Lepoint et al., 2004; Viana & Bode, 2015). En este contexto, la aplicación del AIE en praderas de fanerógamas marinas, puede permitir conocer la influencia de un vertido de origen antrópico sobre la pradera. (McClelland et al., 1997; McClelland & Valiela, 1998).

La zona de estudio comprende desde el Sur del Cabo de Huertas (Alicante) hasta el Cabo Cervera (Torrevieja). La zona ha sido ampliamente estudiada por ser una región con una influencia antrópica notable, tanto en el plano urbanístico, agrícola y salinero (Navarro-Pedreño et al., 2020). Este hecho está favorecido por la influencia fluvial del río Vinalopó en El Pinet y por la desembocadura del Segura en el municipio de Guardamar. A pesar de que se ha estudiado la posible dispersión de los vertidos en el medio marino (Romero Gil et al., 2020), el efecto sobre los ecosistemas bentónicos de la desembocadura del Segura todavía son inciertos. En estudios previos con AIE, se valoró la influencia de la contaminación dispersa de la zona sobre la comunidad fitoplanctónica y las praderas de *Posidonia oceanica*, mostrando una clara influencia (Sánchez-Lizaso et al., 2020).

La hipótesis inicial de este estudio se basa en que la distancia al foco de contaminación influirá en la afección sobre los principales descriptores de la pradera de *C. nodosa* y, además, se observará una mayor acumulación de isótopos procedentes de esta fuente en comparación con estaciones más alejadas.

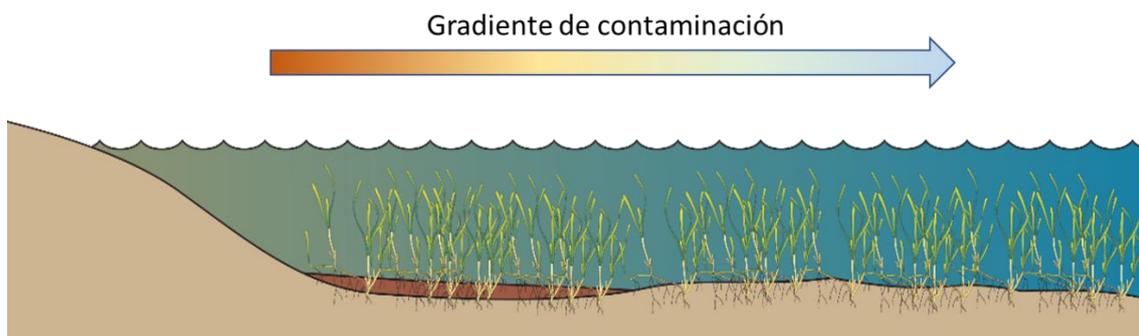


Figura 2: Esquema del efecto de la contaminación en praderas de *C. nodosa*

Para contrastar esta hipótesis se han establecido los siguientes objetivos específicos:

- Determinar si existe un efecto del gradiente de contaminación sobre las praderas de *C. nodosa*.
- Analizar las diferencias entre la zona impactada y las localidades control en los principales descriptores bióticos y abióticos.
- Analizar qué variables contribuyen principalmente a la diferenciación entre las zonas impactadas y las mejor conservadas.
- Determinar si se produce una mayor asimilación de isótopos procedentes de fuentes contaminantes.

2. Material y métodos:

En Guardamar se muestreó en un gradiente de tres localidades de mayor a menor distancia a la desembocadura del río Segura y al Vinalopó. Como a localidades control, se establecieron la Albufereta, por ser una pradera desarrollada a pesar de la influencia de actividades antrópicas, y Tabarca como a localidad libre de impactos por contaminación marina. En cada una de estas localidades, se muestreó en 3 lugares separados entre sí unos 50 metros.

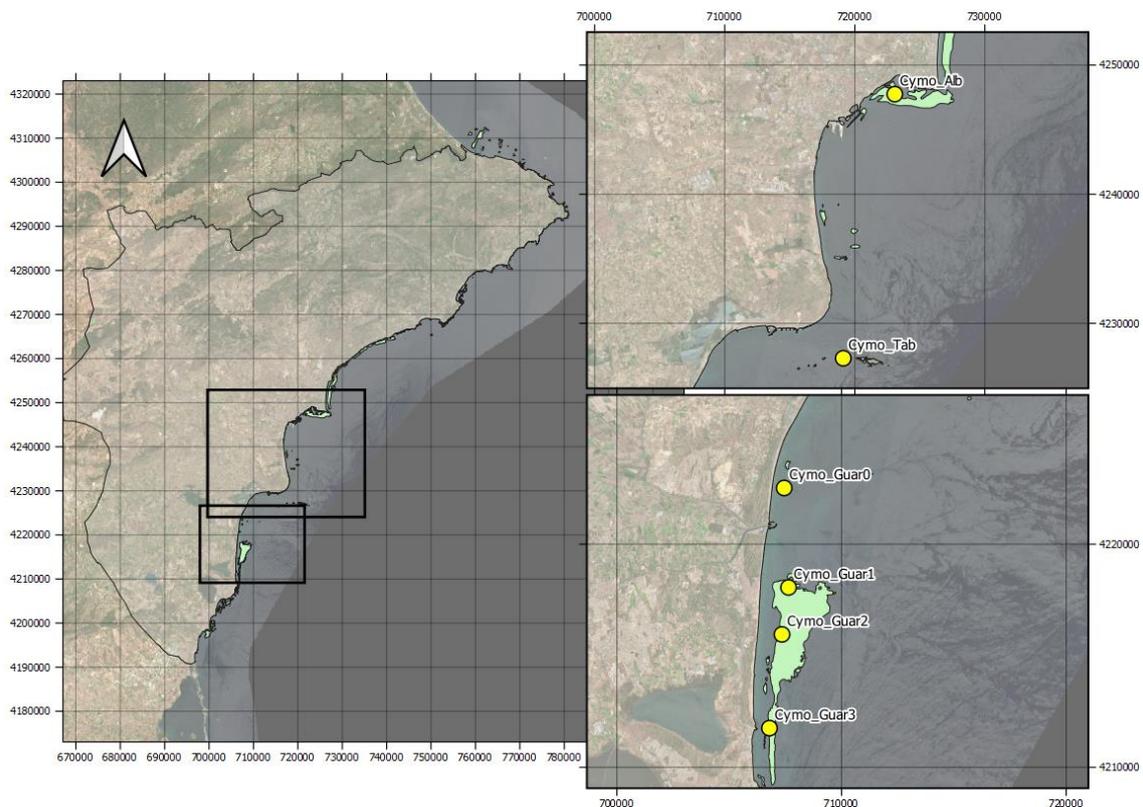


Figura 3: Mapa de las estaciones de muestreo de *C. nodosa*. Datum: WGS 84 UTM 30N

Para la determinación del estado general de la pradera, se midieron los descriptores a escala individual (fenología) y poblacional (densidad, cobertura y biomasa) más utilizados en estudios de fanerógamas marinas (Roca et al., 2016). En cuanto a la caracterización fisicoquímica del substrato, se utilizaron corers de sedimento para a la caracterización del pH y potencial RedOx, así como el contenido en materia orgánica y proporciones granulométricas.

- Densidad y cobertura:

Para medir la densidad se utilizó un cuadrado de PVC, con unas dimensiones de 20x20cm² y se cuantificó el número de haces en la superficie (Figura 4). Este procedimiento se replicó 3 veces en cada lugar (n=45). La cobertura se llevó a cabo mediante un cuadrado de PVC de 1x1m², estimando el porcentaje de cobertura de la fanerógama sobre el fondo. También se midieron 3 réplicas por sitio y localidad (n=45).

- Biomasa y parámetros morfológicos

Empleando un cuadrado metálico de 22,5 x 22,5 cm² (Figura 4), se extrajo toda la biomasa correspondiente a *C. nodosa* en esta superficie (hojas, rizoma y raíces). Este procedimiento se realizó una vez en cada sitio y localidad (n=15). Una vez en el laboratorio, se separó la parte superficial de la planta (epigea) de la parte subterránea, así como los epífitos asentados sobre las hojas y se desecó en la estufa. Después de 48 horas a 70°C, las muestras se pesaron en una balanza de precisión Pioneer PX.

Además, en cada sitio se cogieron muestras de haces de *C. nodosa* para la medida de los principales parámetros morfológicos: nº de hojas/haz, superficie foliar, necrosis (%) y herbivoría (%). La superficie foliar se calculó mediante la medida de longitud y anchura de las hojas, calculando el área total de cada haz. En el caso de la necrosis, se cuantificó el número de hojas con marcas de necrosis por haz. En lo referente a la herbivoría, se utilizó una metodología parecida, calculando el porcentaje de hojas que presentaban mordiscos de herbívoros por cada haz.

Todos los procesos explicados se replicaron por cada haz representando un total de 10 réplicas por sitio (n=150).

- Granulometría, materia orgánica, pH y potencial RedOx

En cada sitio se extrajo un corer cilíndrico de sedimento de 4 cm de diámetro y 25 cm de altura (Figura 4). El sedimento recogido se almacenó en duquesas previamente etiquetadas y se trasladó al laboratorio. En este caso se recogieron 3 muestras por localidad (n= 15).

Para el análisis granulométrico se preparó una columna de tamices con luz de malla de: 2mm, 0,5mm, 0,25mm y 0,063mm, correspondientes a las proporciones más significativas del sedimento: grava, arena gruesa, arena media, arena fina y fangos (Buchanan, 1984). Se añadieron 50 gramos de peso seco de sedimento a la columna de tamices y se utilizó una tamizadora electromagnética digital (IRIS FTL-0200).

Para la determinación del porcentaje de materia orgánica en el sedimento, se metieron 5 gramos de sedimento seco en una mufla Hobersal HD-150 a 400°C durante 4 horas para calcinar toda la porción de materia orgánica y calcular el peso calcinado con una microbalanza de precisión Pioneer PX.

Por último, la lectura del pH y el potencial Redox se obtuvo directamente mediante sensores específicos (CRISON pHmeter 507) inmediatamente después de la obtención de las muestras.

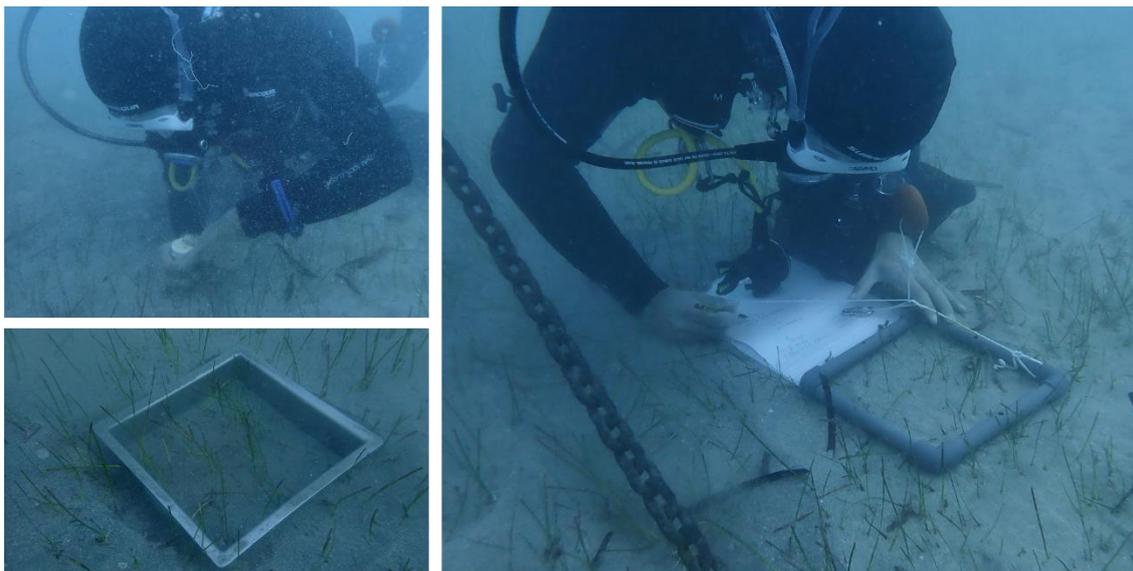


Figura 4: Medida de parámetros físico-químicos, biomasa y densidad en la pradera de C. nodosa.

- Análisis de isótopos estables (AIE)

Para cada estación se recogieron 3 haces (n=18) para el AIE. Una vez en el laboratorio, se eliminaron los epífitos con ácido y se limpiaron las muestras con agua ultrapura. Las muestras se liofilizaron a -58°C y 1.0mbar durante 24h (Figura 5) y después se trituraron mediante nitrógeno líquido, dejando la materia vegetal lo más polvorizada posible (Viana & Bode 2015). Entre la preparación y el envío para el análisis de isótopos estables, las muestras se guardaron en una estufa para evitar su hidratación.

Por otra parte, se recogieron muestras de agua procedentes de río Segura y el río Vinalopó para la determinación de fuentes de contaminación, ya que son dos cursos fluviales con posible contaminación de origen agrícola y con una alta carga de materia orgánica particulada. Además, se trata de una zona con posible influencia de nutrientes procedentes del pienso empleado en las instalaciones acuícolas en mar abierto de Guardamar. Estas

muestras se filtraron mediante filtros de fibra de vidrio de 0.45 μm . Más tarde, los filtros se desecaron a 60°C durante 48 horas y se analizó la composición isotópica. En el caso del pienso, se trituró con un mortero de ágata (Figura 5) y se desecó de igual manera.



*Figura 5: Liofilizador para muestras de *C. nodosa* (izda.) y mortero de ágata para la polvORIZACIÓN de las muestras destinadas al análisis de isótopos estables (dcha.)*

La determinación de $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ se llevó a cabo mediante la combustión en un analizador FlashEA1112 (ThermoFinnigan) acoplado con una interfase Conflo II a un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas MAT253 (ThermoFinnigan).

- Análisis estadístico

Los datos de los descriptores medidos se analizaron con un análisis de la variancia (ANOVA) para determinar la existencia de diferencias significativas en función de la localidad. El modelo lineal utilizado fue:

$$X_{ijn} = \mu + L_i + S(L)_{j(i)} + \text{Residual}_{n(ij)}$$

La Localidad (L_i) se analizó como factor fijo y Sitio ($S(L)_{j(i)}$) como factor aleatorio anidado a localidad. Previamente al análisis, se comprobaron los requisitos de Normalidad (Test de Kolmogorov-Smirnov) y homogeneidad de varianza (test de Barlett), transformando los datos cuando fue necesario. Para identificar en que niveles del factor Localidad se encontraron las diferencias se empleó test de Tukey a posteriori del ANOVA.

En cuanto a los descriptores de biomasa, pH y potencial RedOx ese omitió el factor Sitio, ya que solo había una réplica en este nivel. Por eso el modelo lineal en estos descriptores fue:

$$X_{ijn} = \mu + L_i + \text{Residual}_{n(i)}$$

Por último, se llevó a cabo un análisis de Componentes Principales (PCA) con las variables bióticas y abióticas medidas para la caracterización de las localidades con la finalidad de calcular la contribución de cada descriptor a las diferencias entre estas variables.

Para los diferentes análisis se utilizaron el software estadístico R y los paquetes “sciplot” y “sitar”.

3. Resultados

3.1. Densidad y cobertura de la pradera

Los resultados de ANOVA para la cobertura de *C. nodosa* mostraron diferencias significativas entre las tres estaciones de Guardamar y los dos controles, Albufereta y Tabarca (Tabla 1). Los valores fueron superiores en el caso de los controles, llegando al 60% (Figura 6).

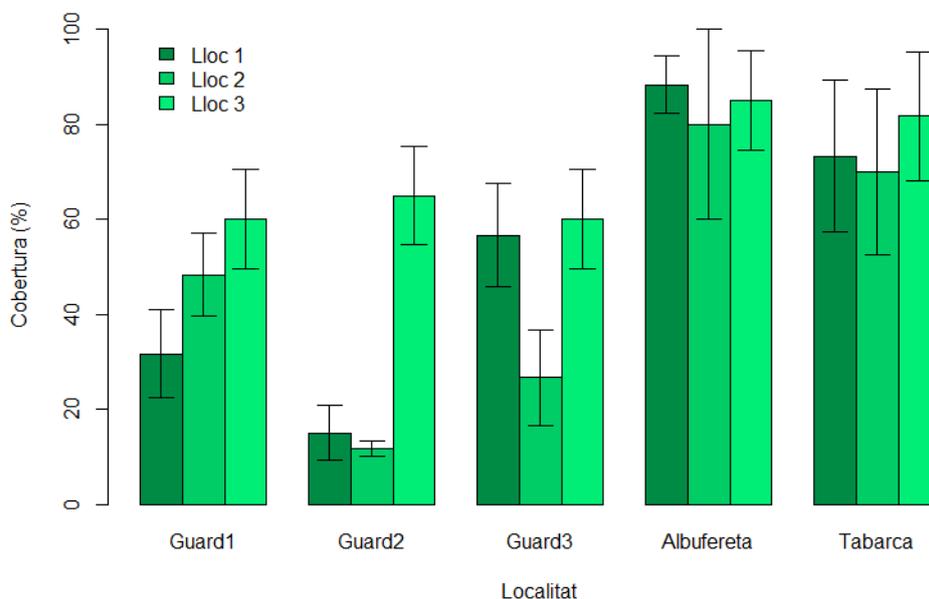


Figura 6: Valores del porcentaje de cobertura de *C. nodosa*

Los valores de densidad también permitieron agrupar las estaciones de Guardamar, ya que no se encontraron diferencias entre ellas (Tabla 1), oscilando entre 150 y 380 haces/m².

En cuanto a los controles, en Tabarca la densidad fue significativamente mayor que en el resto de localidades (700 haces/m²), y la Albufereta mostró valores entre 350 y 600 haces/m², también superiores a los de las localidades impactadas (Figura 7).

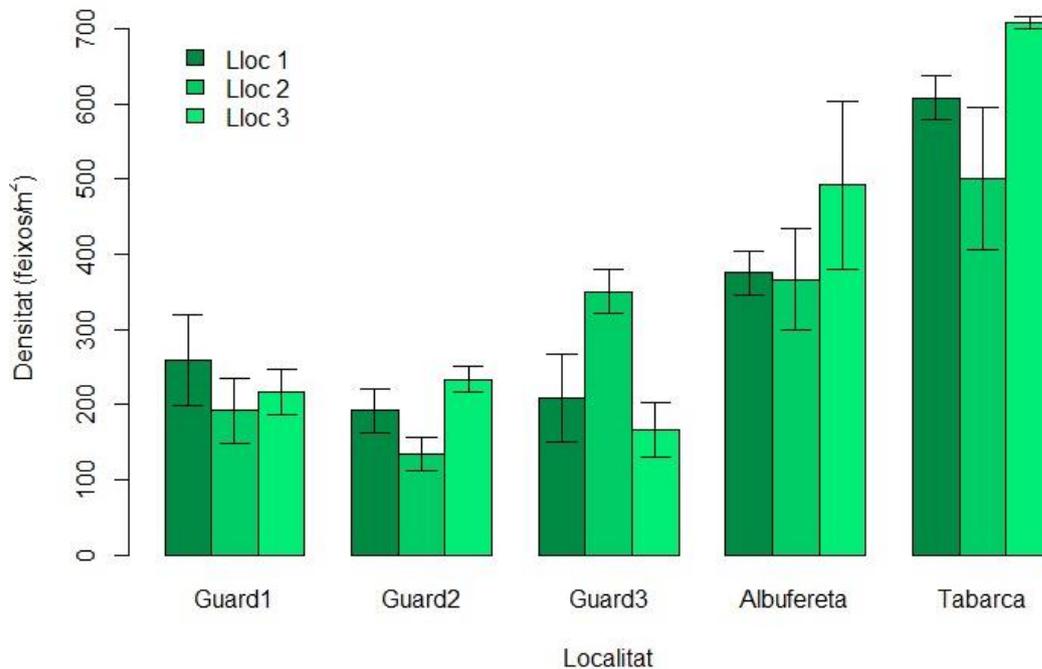


Figura 7: Valores de densidad de haces de *C. nodosa*

Tabla 1: Resultados del ANOVA de los descriptores de densidad y cobertura. Se representan los grados de libertad (GL), la suma de cuadrados (SC), los cuadrados medios (CM), el valor de F y el p-valor. Valores estadísticamente significativos cuando p-valor < 0.05

Descriptor	Factors	GL	SC	CM	F	p-valor
Cobertura (%)	Localidad	4	17714	4429	10.86	1.45E-05
	Localidad: Sitio	10	8917	892	2.187	0.0478
	Residual	30	12233	408		
Densidad(haces/m ²)	Localidad	4	1103194	275799	33.096	1.32E-10
	Localidad: Sitio	10	171806	17181	2.062	0.0615
	Residual	30	250000	8333		

3.2. Biomasa y fenología

En cuanto a la biomasa total, ambos controles (Albufereta y Tabarca) tuvieron pesos significativamente superiores a las praderas impactadas, destacando la estación Guar3 por

los valores más bajos de esta métrica (Figura 8). Por tanto, este descriptor sí que reveló diferencias significativas entre las estaciones de Guardamar, y los controles.

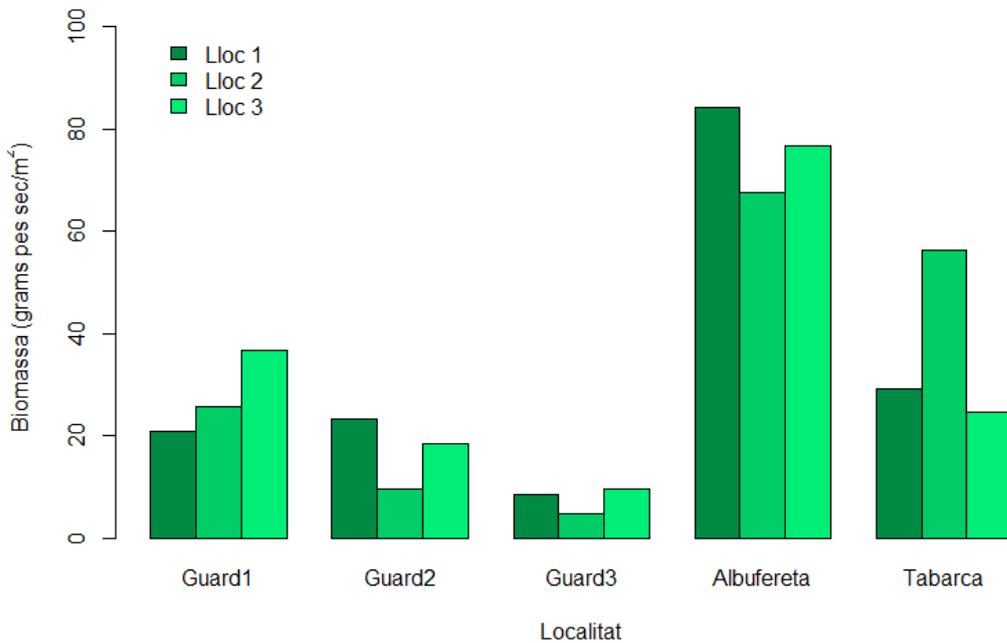


Figura 8: Valores de biomasa total por localidad

En el caso de la biomasa epigea, los resultados fueron similares. De esta manera, los valores de las estaciones de Guardamar fueron significativamente menores a los controles y muy similares entre ellos (Figura 9).

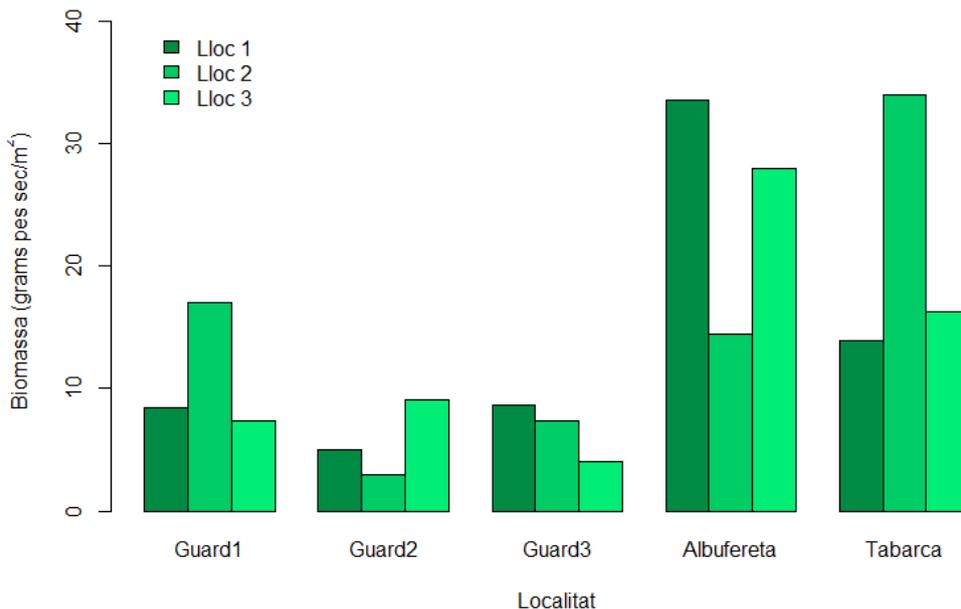


Figura 9: Valores de biomasa epigea por localidad

En lo referente a los valores de biomasa epifítica, Albufereta presentó los valores significativamente más elevados, mientras que en Tabarca se obtuvieron valores bajos y similares a Guardamar.

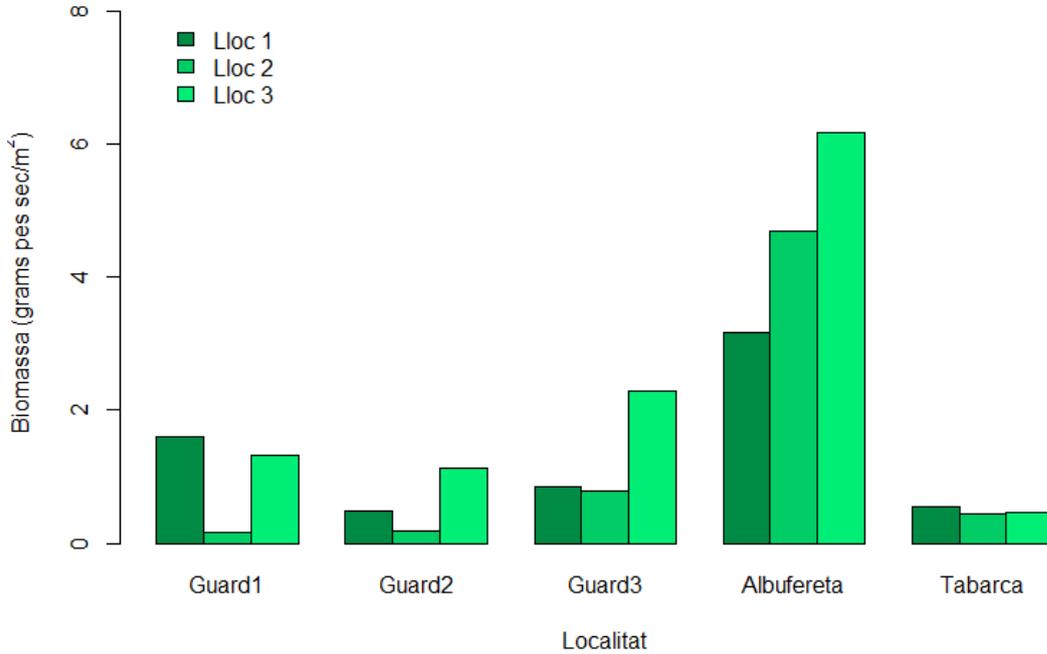


Figura 10: Valores de biomasa de epifitos por localidad.

Los resultados de la fenología fueron diferentes en función del descriptor analizado. En el caso del número de hojas por haz de *C. nodosa*, no se encontraron diferencias significativas para las diferentes estaciones. En todos los casos la mayoría de los valores fueron de entre una y dos hojas por haz (Figura 11).

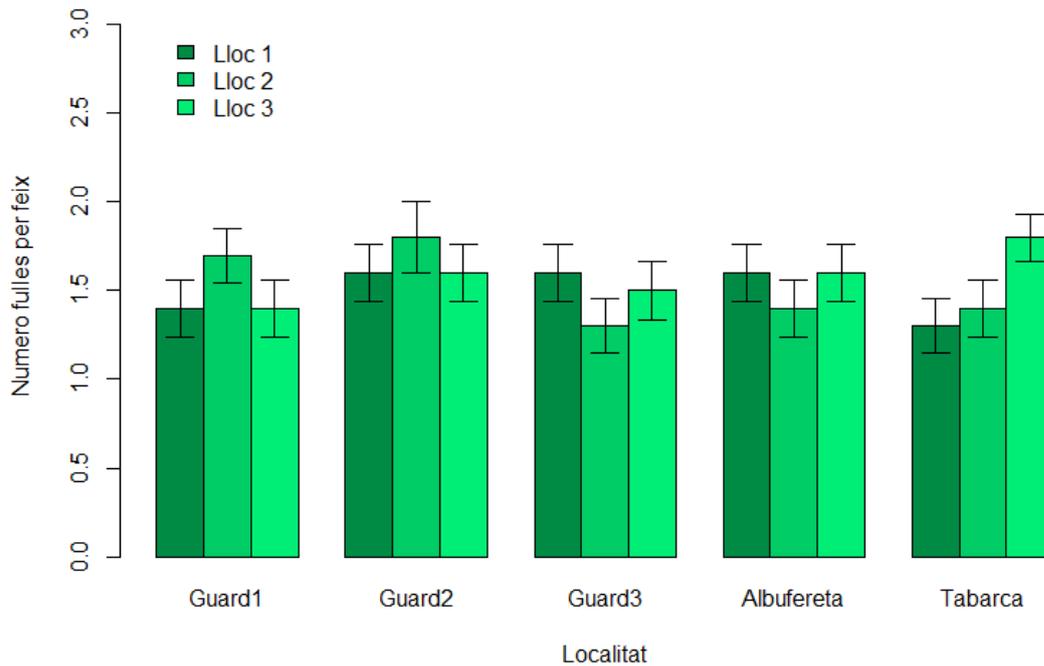


Figura 11: Valores del número de hojas por haz de *C. nodosa* en cada localidad.

La superficie foliar (cm^2/feix) presentó resultados homogéneos dentro de las localidades de Guardamar y una tendencia inversa para cada control. Por un lado, Albufereta se diferenció debido a los valores significativamente superiores ($4\text{-}6 \text{ cm}^2$), mientras que Tabarca presentaba una superficie foliar significativamente inferior al resto de estaciones ($1\text{-}3 \text{ cm}^2$) (Figura 12).

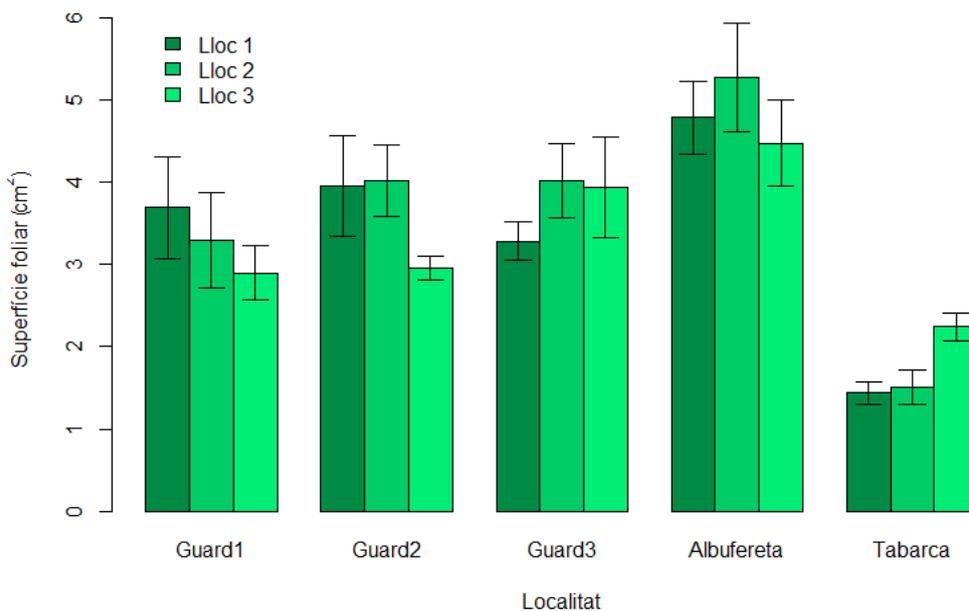


Figura 12: Valores de superficie foliar por localidad.

El porcentaje de herbivoría reflejó valores próximos al 20% en la mayoría de las localidades y, a pesar de la ausencia de diferencias significativas (Tabla 2), se puede apreciar que en Tabarca este descriptor presenta los valores más elevados respecto al resto de estaciones (Figura 13).

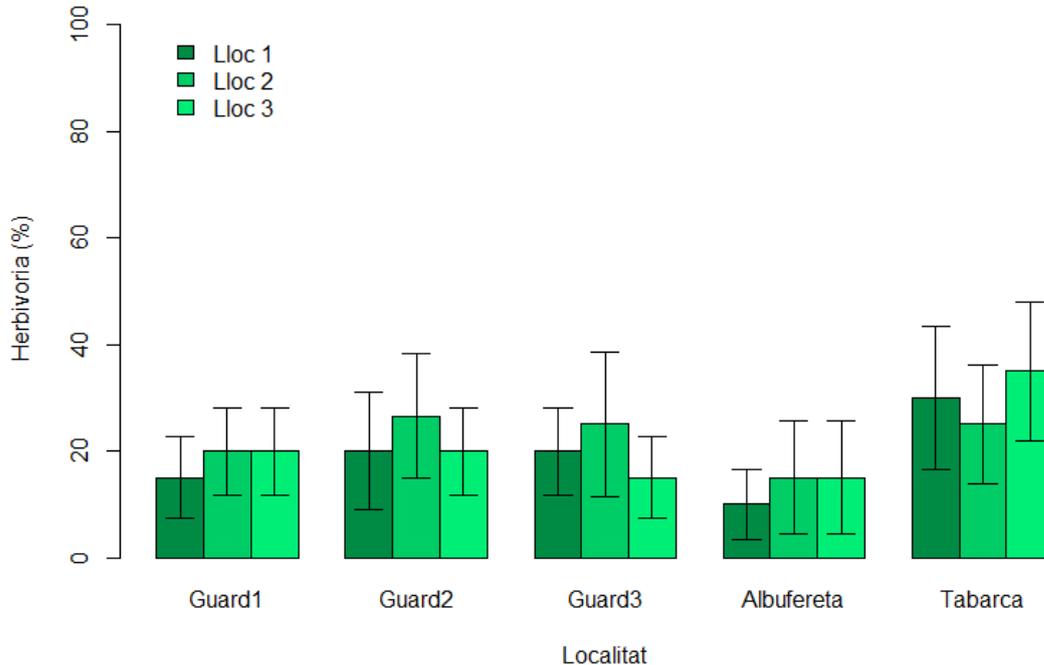


Figura 13: Valores de porcentaje de herbivoría por localidad.

En cuanto al porcentaje de hojas con necrosis, las muestras de la pradera de Guardamar presentan homogeneidad entre ellas y con el control de la Albufera, que muestra valores más elevados (Figura 14). En Tabarca, los valores fueron significativamente inferiores al resto de estaciones (Tabla 2).

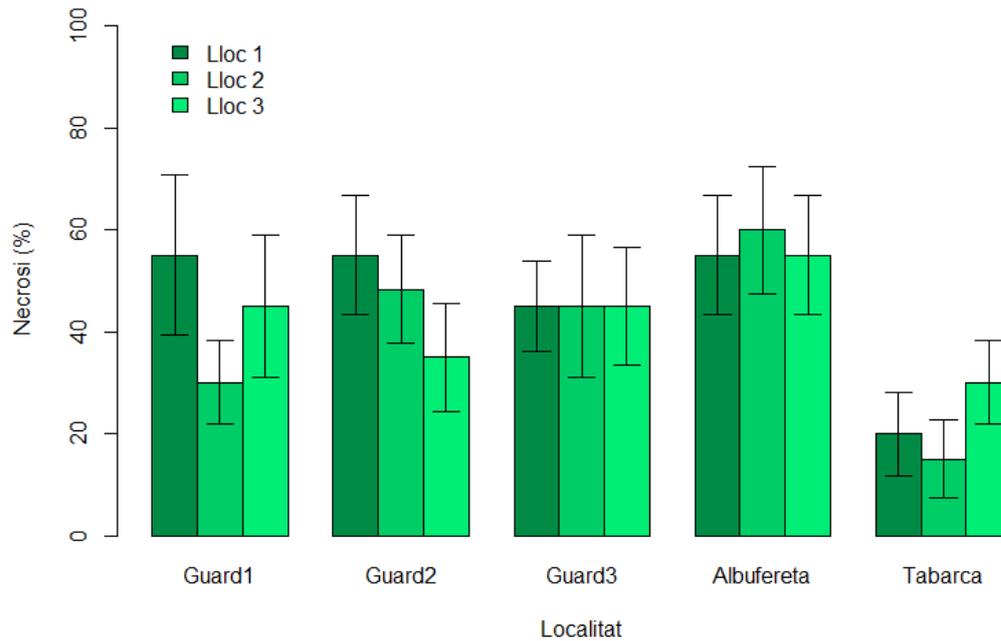


Figura 14: Valores del porcentaje de hojas con necrosis por localidad.

Tabla 2: Resultados del ANOVA de los descriptores de fenología y biomasa. Se representan los grados de libertad (GL), la suma de cuadrados (SC), los cuadrados medios (CM), los valores de F y el p-valor. Valores estadísticamente significativos cuando $p\text{-valor} < 0.05$

Descriptor	Factores	GL	SC	CM	F	p-valor
Biomasa total	Localidad	4	8400	2100.1	13.329	0.00707
	Residual	5	788	157.6		
Biomasa epigea	Localidad	4	945.5	236.38	2.445	0.177
	Residual	5	483.4	96.68		
Biomasa de epífitos	Localidad	4	2.6706	0.6677	13.732	0.00662
	Residual	5	0.2431	0.0486		
Nº de hojas	Localidad	4	0.73	0.1833	0.688	0.601
	Localidad:Sitio	5	1.3	0.26	0.976	0.435
	Residual	140	37.3	0.2664		
Superficie foliar	Localidad	4	9.296	2.3239	24.385	2.52E-15
	Localidad:Sitio	5	0.658	0.1317	1.382	0.235
	Residual	140	13.342	0.0953		
Herbivoría	Localidad	4	4472	1118	1.101	0.359
	Localidad:Sitio	5	500	100	0.098	0.992
	Residual	140	142154	1015		
Necrosis	Localidad	4	19638	4910	3.943	0.0046

Localidad:Sitio	5	3000	600	0.482	0.7894
Residual	140	174333	1245		

3.3. Parámetros del sedimento

Los parámetros del sedimento analizados presentaron diferencias entre las localidades a pesar que su composición fue ser muy similar. En todos los casos las arenas finas (0.064-0.125 mm) fueron la fracción más abundante del sedimento, con valores significativamente mayores en Guard1 y Guard2 en comparación con Tabarca. En lo referente a la Albufereta, la fracción fangosa fue superior al resto de estaciones, con diferencias significativas respecto a Guard1 y Guard3 (Tabla 3).

Las arenas medias (>0.125mm) destacaron en Tabarca con valores significativamente superiores al resto de estaciones (Figura 15).

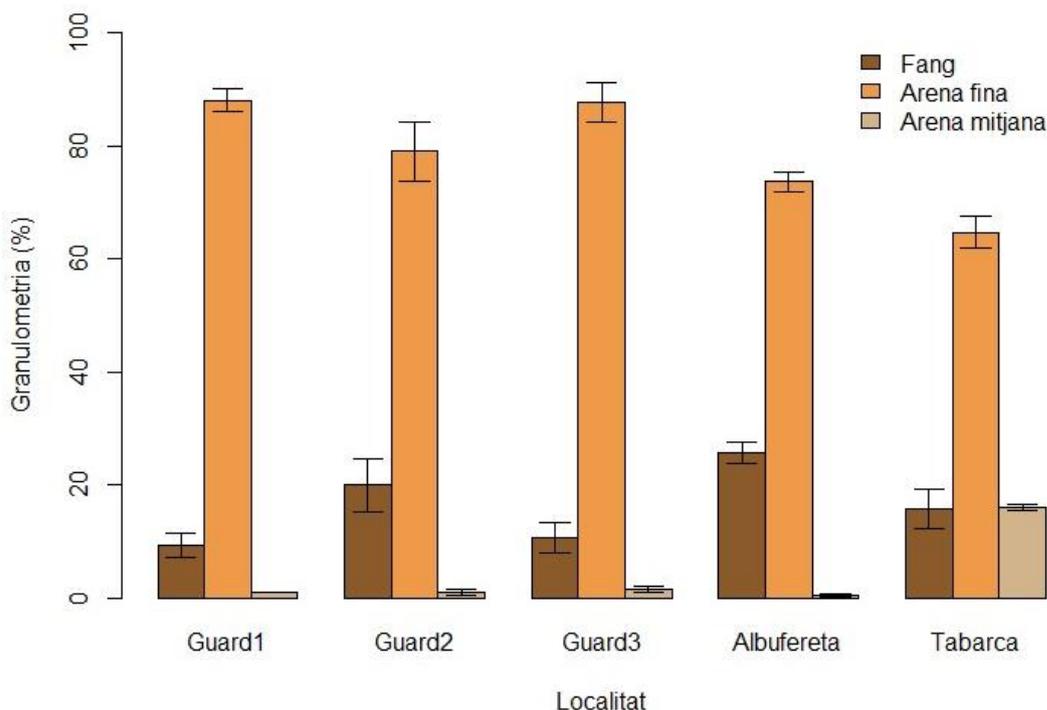


Figura 15: Proporciones granulométricas del sedimento de las praderas estudiadas.

Por otro lado, el potencial RedOx presentó valores negativos en casi la totalidad de los puntos estudiados, a excepción de los sitios 1 y 2 de Guard1. El control de la Albufereta presentó valores significativamente más negativos que las otras estaciones (Figura 16).

Mientras, en Guardamar y Tabarca los valores se quedaron por encima de -200mV, y en Albufereta se llegó a -356 mV.

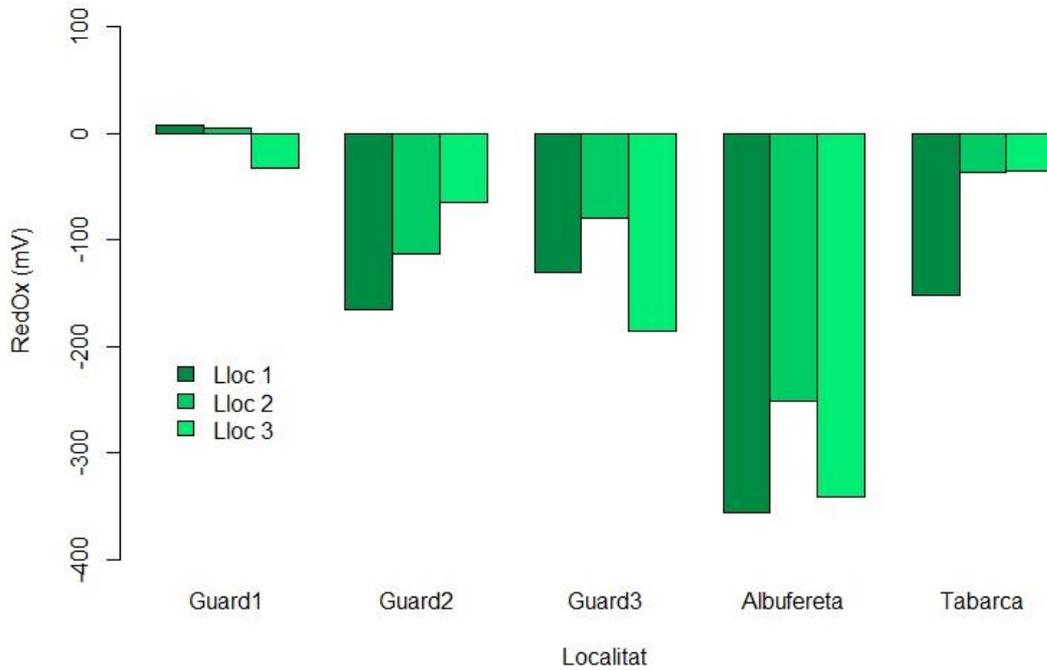


Figura 16: Valores de potencial RedOx por localidad.

Los valores de pH, estuvieron en todos los casos próximos a 8, con valores significativamente inferiores en las localidades impactadas (Figura 16). De esta manera, quedan estadísticamente diferenciados los sedimentos de Guardamar de los controles (Tabla 3).

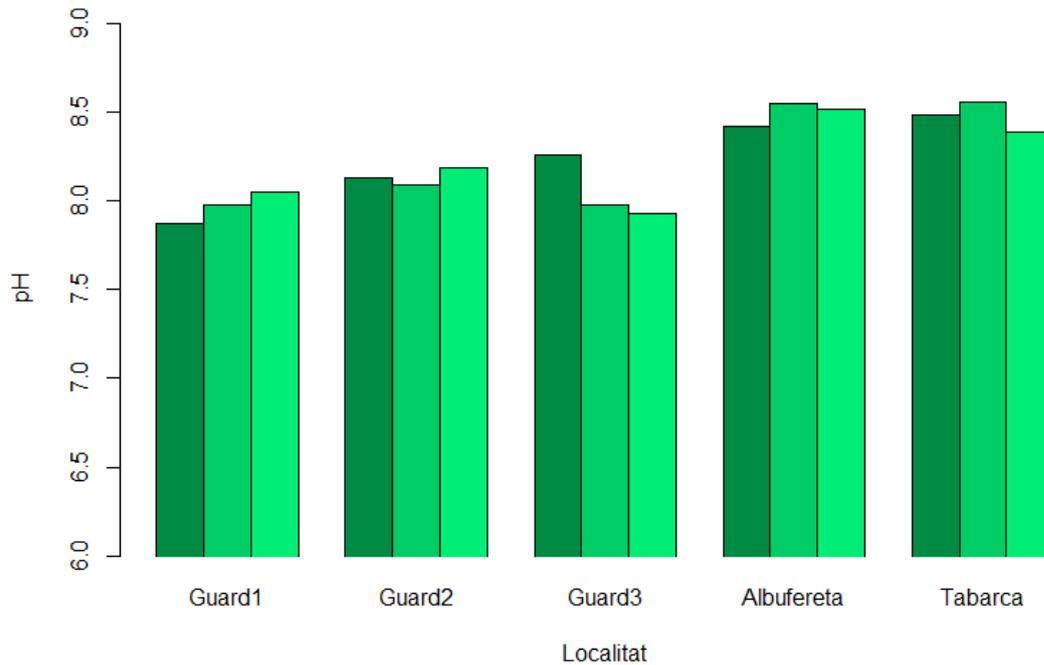


Figura 17: Valores de pH por localidad.

El porcentaje de materia orgánica del sedimento presentó homogeneidad entre las localidades de Guardamar y el control de la Albufereta, con valores del 1-2.5%, mientras que los valores de Tabarca son significativamente superiores, llegando a superar el 4% de proporción de materia orgánica (Figura17) (Tabla 3).

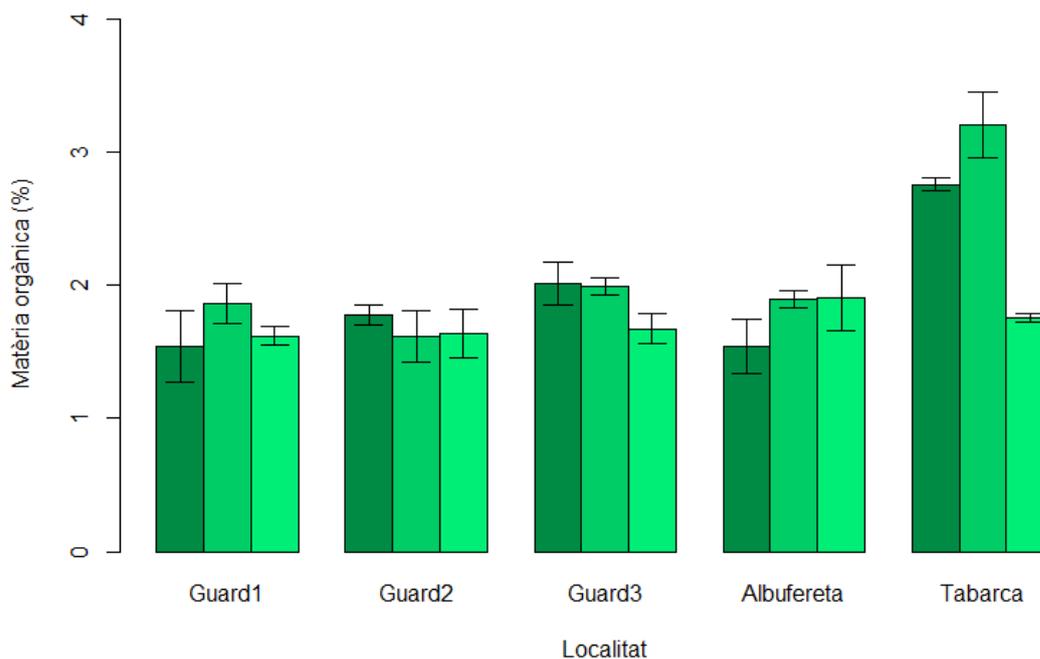


Figura 18: Valores del porcentaje de materia orgánica por localidad.

Tabla 3: Resultados del ANOVA de los descriptores del sedimento. Es representen los grados de libertad (GL), la suma de cuadrados (SC), los cuadrados medios (CM), los valores de F y el p-valor. Valores estadísticamente significativos cuando $p\text{-valor} < 0.05$

Descriptor	Factores	GL	SC	CM	F	p-valor
Fangos	Localidad	4	546.3	136.57	4.603	0.0229
	Residual	10	296.7	29.67		
Arena fina	Localidad	4	1168	291.9	8.792	0.0026
	Residual	10	332	33.2		
Arena media	Localidad	4	547.7	136.9	227.2	9.07E-10
	Residual	10	6	0.6		
Potencial RedOx	Localidad	4	159453	39863	14.56	0.000356
	Residual	10	27378	2738		
pH	Localidad	4	0.725	0.18126	16.68	0.000201
	Residual	10	0.1087	0.01087		
Materia orgánica	Localidad	4	0.4804	0.12009	12.855	3.28E-06
	Localidad:Sitio	10	0.3822	0.03822		
	Residual	30	0.2802	0.00934		

3.4. Isótopos estables

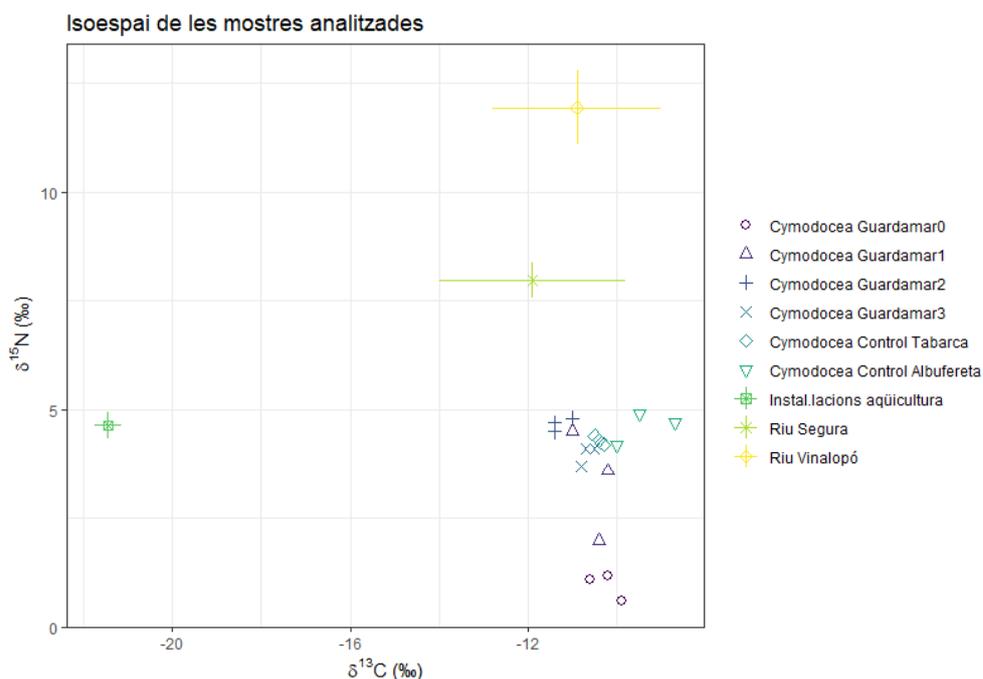


Figura 19: Valores de $\delta^{15}\text{N}$ $\delta^{13}\text{C}$ para las muestras de *C. nodosa* y las fuentes de contaminación analizadas.

Los resultados de los isótopos estables indican una clara diferencia entre la composición de las diferentes fuentes de contaminantes consideradas (Río Segura, Río Vinalopó y piensos de acuicultura). No obstante eso, estas diferencias no se observaron en las diferentes localidades, ya que como se observa en la figura hay solapamiento entre los controles y algunas estaciones impacto (Figura 19).

En lo que respecta a las variables bióticas estudiadas (Figura 20), se puede apreciar una alta homogeneidad entre las 3 localidades de Guardamar que, además, quedan claramente diferenciadas de los controles, Albufereta y Tabarca. Las localidades de Guardamar se caracterizan por valores bajos de biomasa (total y epigea), superficie foliar, densidad y cobertura. Por el contrario, Albufereta resultó ser una pradera con elevados valores para todos los descriptores previamente mencionados. Por último, Tabarca destaca por un mayor porcentaje de herbivoría pero una baja tasa de necrosis e, igual que Albufereta, presenta altos valores de densidad y cobertura, pero la superficie foliar fue significativamente menor.

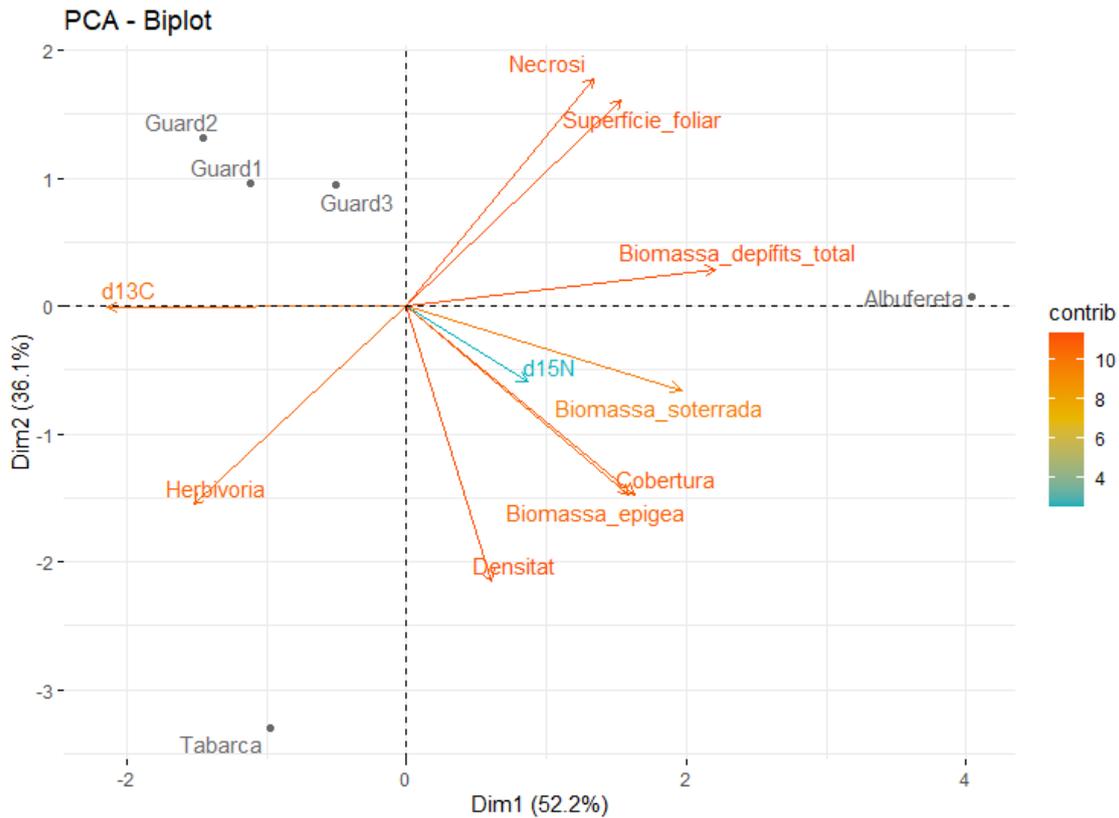


Figura 20: Representación del PCA sobre las variables bióticas y ubicación de las localidades muestreadas.

En cuanto a los parámetros abióticos analizados (Figura 21), las estaciones impacto han estado diferenciadas de los controles. Los sedimentos de la zona de Guardamar se caracterizaron por elevados porcentajes de arena fina, baja materia orgánica, un RedOx positivo y un pH ligeramente ácido. En Tabarca, los sedimentos destacaron por un elevado contenido de arenas medias y un porcentaje de materia orgánica mayor que el resto de localidades. Por último, en el caso de la Albufereta, el sedimento fue ser principalmente fangoso, con un RedOx negativo y un pH básico, por lo que se diferencia notablemente del resto de localidades.

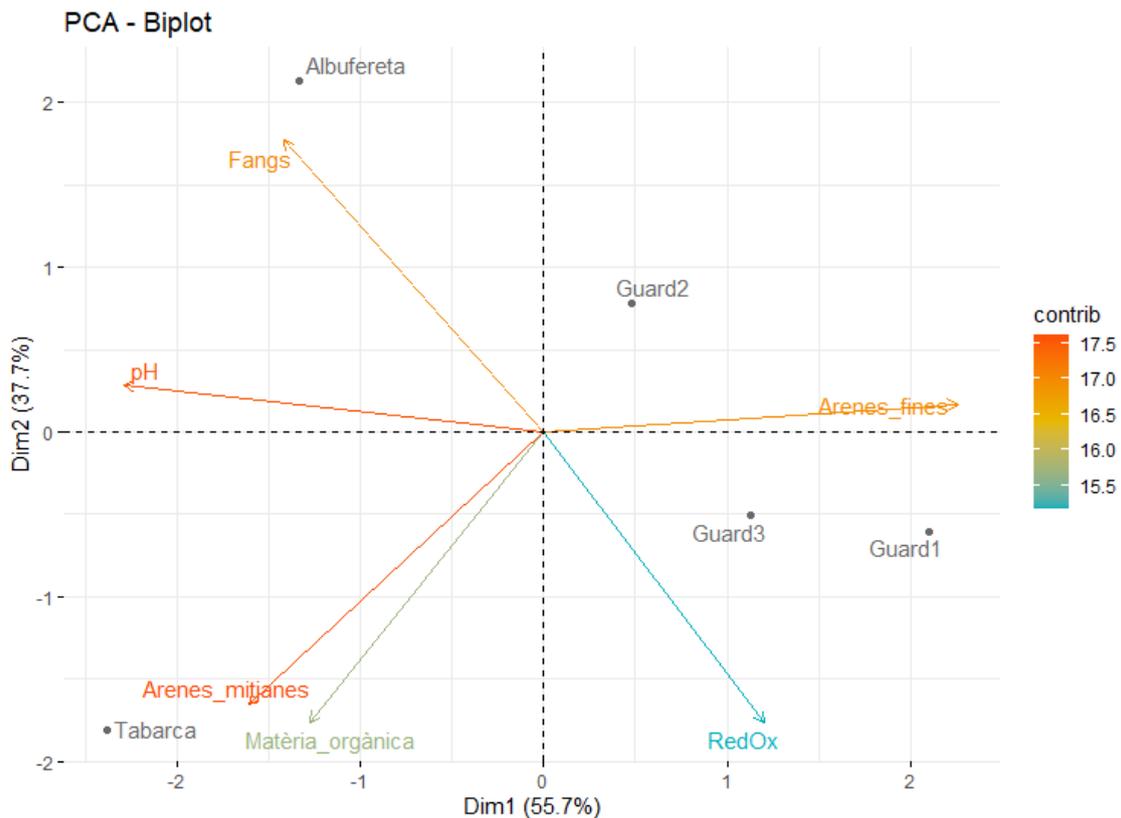


Figura 21: Representación del PCA sobre las variables abióticas y ubicación de las localidades muestreadas.

4. Discusión

Los resultados obtenidos revelan una clara diferenciación entre las praderas de las localidades de Guardamar, con mayor influencia de cursos fluviales y otros contaminantes antrópicos, y las praderas de los controles de Tabarca y Albufereta.

Condiciones adversas desfavorables como la presencia de posibles contaminantes o la turbidez del agua han condicionado el estado de las praderas de Guardamar, desarrollando individuos de menor biomasa y superficie foliar en comparación con los controles. La homogeneidad generalizada para los descriptores de la pradera de Guardamar no ha permitido distinguir un gradiente de contaminación dentro de la zona impactada. Eso puede deberse al hecho de que el grado de impacto o degradación del ecosistema es similar dentro del área estudiada, dando lugar a pocos cambios en la comunidad a pesar de la distancia a las principales fuentes de contaminación.

Ambos controles también han estado bien diferenciados en lo referido a los parámetros bióticos y abióticos estudiados. La diferencia en la composición del sedimento, Albufereta con un suelo más fangoso y Tabarca con unas arenas más gruesas, puede suponer un condicionante para el desarrollo de la pradera. Además, en Albufereta también se encontraron valores más elevados de biomasa, superficie foliar y RedOx más negativos, hecho que coincide con estudios previos, en los cuales se indicaba la colonización de *C. nodosa* de sedimentos anóxicos con elevada carga de materia orgánica (Belando et al., 2021). Por otra parte, trabajos anteriores en la zona han podido mostrar que la Albufereta se ha visto influenciada con diferente intensidad por la actividad humana a lo largo del tiempo (Sánchez-Lizaso et al., 2019). Esto podría suponer una entrada de nutrientes de manera difusa que favorecería el crecimiento y colonización de *C. nodosa* en comparación a la pradera de Tabarca.

En cuanto al mayor porcentaje de herbivoría en el caso de Tabarca, puede estar debido a la proximidad al límite de una Reserva Marina de Interés Pesquero, que se traduce en una mayor abundancia de especies que se alimentan de *C. nodosa* debido al efecto de exportación de ictiofauna desde el área protegida (Martínez-Crego et al., 2021; Raventos et al., 2009).

Por último, los resultados de isótopos estables revelaron una elevada capacidad en *C. nodosa* para discriminar nutrientes. A pesar de que en algunos estudios la proximidad a la fuente de contaminación de origen antrópico se correlaciona con una mayor proporción del isótopo pesado del nitrógeno y, por tanto, una mayor $\delta^{15}\text{N}$ (Kamermans et al., 2002; Lepoint et al., 2004; Sánchez-Lizaso et al., 2020; Yamamuro et al., 2003); otros estudios han encontrado tendencias inversas (Udy et al., 1999; Udy & Dennison, 1997; Walton et al., 2016). Este último caso puede explicarse debido a los diferentes mecanismos celulares que hacen que el organismo seleccione aquellos compuestos conformados por isótopos ligeros (Fry, 2006). Este fraccionamiento isotópico por parte de *C. nodosa* evidencia su capacidad de gestionar la presencia de contaminantes de procedencia antrópica y, por tanto, la necesidad de conocer los mecanismos de discriminación y asimilación de especies nitrogenadas para poder utilizar los AIE en praderas de esta especie de fanerógama marina.

La menor contribución de los marcadores isotópicos en la diferenciación de las praderas estudiadas no ha permitido determinar la fuente de contaminantes asimilados por *C. nodosa*, pero abre la posibilidad de realizar estudios en mesocosmos que ayuden a calcular de una manera más precisa el fraccionamiento isotópico de esta especie.

5. Conclusiones

- La utilización de múltiples descriptores bióticos y abióticos es fundamental para la adecuada determinación y caracterización del impacto de la contaminación marina en las praderas de fanerógamas.
- La pradera de *C. nodosa* de Guardamar del Segura ha presentado valores menores de la mayoría de los descriptores analizados en comparación a los controles, indicando un desarrollo más pobre de la pradera debido, posiblemente, a la influencia antrópica sobre el ecosistema.
- No se ha podido observar un efecto del gradiente de contaminación entre las estaciones de Guardamar, indicando la posibilidad de que la escala espacial de la influencia de los posibles estresores puede ser mayor a la región muestreada.
- El análisis de isótopos estables no ha revelado diferencias según el estado ecológico de las praderas estudiadas. Esto puede ser debido, posiblemente, al fraccionamiento en la asimilación de nutrientes por parte de *C. nodosa*.
- Futuras investigaciones que permitan determinar el grado de fraccionamiento en la asimilación por parte de las fanerógamas marinas en el medio natural serían de gran utilidad para poder entender e interpretar correctamente los resultados obtenidos con los AIE.

6. Bibliografía:

- Belando, M. D., Bernardeau-Esteller, J., Paradinas, I., Ramos-Segura, A., García-Muñoz, R., García-Moreno, P., Marín-Guirao, L., & Ruiz, J. M. (2021). Long-term coexistence between the macroalga *Caulerpa prolifera* and the seagrass *Cymodocea nodosa* in a Mediterranean lagoon. *Aquatic Botany*, 173(June), 103415. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2021.103415>
- Boesch, D. (2001). Factors in the Decline of Coastal Ecosystems. *Science*, 293(5535), 1589c – 1591. <https://doi.org/10.1126/science.293.5535.1589c>
- Bonanno, G., & Borg, J. A. (2018). Comparative analysis of trace element accumulation in seagrasses *Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa*: Biomonitoring applications and legislative issues. *Marine Pollution Bulletin*, 128(June 2017), 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.013>
- Bonanno, G., Veneziano, V., Raccuia, S. A., & Orlando-Bonaca, M. (2020). Seagrass *Cymodocea nodosa* and seaweed *Ulva lactuca* as tools for trace element biomonitoring. A comparative study. *Marine Pollution Bulletin*, 161(July), 111743. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111743>
- Buchanan, J. B. (1984). *Sediment analysis. En: Methods for the Study of Marine Benthos.*

- Blackwell Scientific Publications, Oxford. <https://doi.org/10.1002/9781118542392>
- Crain, C. M., Kroeker, K., & Halpern, B. S. (2008). Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. *Ecology Letters*, *11*(12), 1304–1315. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01253.x>
- Egea, L. G., Jiménez-Ramos, R., Vergara, J. J., Hernández, I., & Brun, F. G. (2018). Interactive effect of temperature, acidification and ammonium enrichment on the seagrass *Cymodocea nodosa*. *Marine Pollution Bulletin*, *134*(February 2017), 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.02.029>
- Fry, B. (2006). *Stable Isotope Ecology*. Springer US.
- Kamermans, P., Hemminga, M. A., Tack, J. F., Mateo, M. A., Marbà, N., Mtolera, M., Stapel, J., Verheyden, A., & Daele, T. Van. (2002). Groundwater effects on diversity and abundance of lagoonal seagrasses in Kenya and on Zanzibar Island (East Africa). *Marine Ecology Progress Series*, *231*(Johannes 1980), 75–83.
- Kendall, C., Elliott, E. M., & Wankel, S. D. (2007). Tracing Anthropogenic Inputs of Nitrogen. *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science*, 375–449.
- Lepoint, G., Dauby, P., & Gobert, S. (2004). Applications of C and N stable isotopes to ecological and environmental studies in seagrass ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, *49*(11–12), 887–891. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.07.005>
- Lotze, H. K., Lenihan, H. S., Bourque, B. J., Bradbury, R. H., Cooke, R. G., Kay, M. C., Kidwell, S. M., Kirby, M. X., Peterson, C. H., & Jackson, J. B. C. (2006). Depletion degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. *Science*, *312*(5781), 1806–1809. <https://doi.org/10.1126/science.1128035>
- Mancinelli, G., & Vizzini, S. (2015). Assessing anthropogenic pressures on coastal marine ecosystems using stable CNS isotopes: State of the art, knowledge gaps, and community-scale perspectives. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *156*(1), 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.11.030>
- Marín-Guirao, L., Atucha, A. M., Barba, J. L., López, E. M., & García Fernández, A. J. (2005). Effects of mining wastes on a seagrass ecosystem: Metal accumulation and bioavailability, seagrass dynamics and associated community structure. *Marine Environmental Research*, *60*(3), 317–337. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.11.002>
- Martínez-Crego, B., Prado, P., Marco-Méndez, C., Fernández-Torquemada, Y., Espino, F., Sánchez-Lizaso, J. L., de la Ossa, J. A., Vilella, D. M., Machado, M., & Tuya, F. (2021). Driving factors of biogeographical variation in seagrass herbivory. *Science of the Total Environment*, *758*, 143756. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143756>
- Martínez-Crego, B., Vergés, A., Alcoverro, T., & Romero, J. (2008). Selection of multiple seagrass indicators for environmental biomonitoring. *Marine Ecology Progress Series*, *361*, 93–109. <https://doi.org/10.3354/meps07358>
- McClelland, J. W., & Valiela, I. (1998). Linking nitrogen in estuarine producers to land-derived sources. *Limnology and Oceanography*, *43*(4), 577–585. <https://doi.org/10.4319/lo.1998.43.4.0577>
- McClelland, J. W., Valiela, I., & Michener, R. H. (1997). Nitrogen-stable isotope signatures in estuarine food webs: A record of increasing urbanization in coastal watersheds. *Limnology and Oceanography*, *42*(5 I), 930–937. <https://doi.org/10.4319/lo.1997.42.5.0930>
- Navarro-Pedreño, J., Almendro-Candel, M. B., Gómez-Lucas, I., Jordán-Vidal, M. M., Meléndez-Pastor, I., & Gallego-Moreno, C. (2020). PROYECTO DE INVESTIGACIÓN APLICADA A RECURSOS HÍDRICOS EN LA COMUNITAT VALENCIANA 2020. *Generalitat Valenciana*. http://agroambient.gva.es/documents/163005665/172953582/%28PDF%29-UMH_1_Memoria+de+actuaciones+AGUAS+2020.pdf/90e097e0-912c-4f39-9b90-796c0ffec0e9
- Perez, M., Duarte, C. M., Romero, J., Sand-Jensen, K., & Alcoverro, T. (1994). Growth plasticity in *Cymodocea nodosa* stands: the importance of nutrient supply. *Aquatic*

- Botany*, 47(3–4), 249–264. [https://doi.org/10.1016/0304-3770\(94\)90056-6](https://doi.org/10.1016/0304-3770(94)90056-6)
- Raventos, N., Ferrari, B., & Planes, S. (2009). Differences in population parameters and behaviour of the herbivorous fish *Sarpa salpa* between protected and unprotected seagrass meadows in the north-western Mediterranean. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89(6), 1153–1159. <https://doi.org/10.1017/S0025315409000423>
- Roca, G., Alcoverro, T., Krause-Jensen, D., Balsby, T. J. S., Van Katwijk, M. M., Marbà, N., Santos, R., Arthur, R., Mascaró, O., Fernández-Torquemada, Y., Pérez, M., Duarte, C. M., & Romero, J. (2016). Response of seagrass indicators to shifts in environmental stressors: A global review and management synthesis. *Ecological Indicators*, 63, 310–323. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.12.007>
- Romero Gil, I., Cambronero Arribas, P., González Escrivá, J. A., Molines Llodra, J. M., Aguas Vivas Pachés Giner, M., Martínez Guijarro, R., Serra Peris, J., Pulido Velázquez, M. R., & Barat Baviera, R. (2020). Estado ecológico de la masa de agua costera C017: Santa Pola-Guardamar del Segura, dinámica litoral, fuentes de contaminación y sus medidas de gestión. *Generalitat Valenciana*, 0–40. http://agroambient.gva.es/documents/163005665/172953582/UPV_Informe+2020+GVA+Recursos+Hidricos.pdf/4ceee99b-d918-4d96-9a1a-40a88f46a4bb
- Sánchez-Lizaso, J. L., Aguilar-Escribano, J., Blanco-Murillo, F., Varela, M., Sola, I., & del-Pilar-Ruso, Y. (2020). Efectos de la eutrofización en masas de agua costeras de la provincia de Alicante. *Generalitat Valenciana*, 1–52. <http://agroambient.gva.es/documents/163005665/172953582/%28PDF%29-INFORME+FINAL+CONVENIO+UA.pdf/>
- Sánchez-Lizaso, J. L., Del-Pilar-Ruso, Y., Fernández-Torquemada, Y., Carratalá-Giménez, A., Blanco-Murillo, F., & Ramos-Esplá, A. A. (2019). Estudio sobre la afección del vertido de la EDAR del Rincón de León en la zona marítima localizada al sur de del puerto de Alicante y posibles alternativas. *Conselleria d'Agricultura, Desenvolupament Rural, Emergència Climàtica y Transició Ecològica*, 8(5), 55.
- Udy, J. W., & Dennison, W. C. (1997). Growth and physiological responses of three seagrass species to elevated sediment nutrients in Moreton Bay, Australia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 217(2), 253–277. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(97\)00060-9](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(97)00060-9)
- Udy, J. W., Dennison, W. C., Lee Long, W. J., & McKenzie, L. J. (1999). Responses of seagrass to nutrients in the Great Barrier Reef, Australia. *Marine Ecology Progress Series*, 185(Kuhlman 1988), 257–271. <https://doi.org/10.3354/meps185257>
- Viana, I. G., & Bode, A. (2015). Variability in $\delta^{15}\text{N}$ of intertidal brown algae along a salinity gradient: Differential impact of nitrogen sources. *Science of the Total Environment*, 512–513, 167–176. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.019>
- Walton, M. E. M., Al-Maslmani, I., Haddaway, N., Kennedy, H., Castillo, A., Al-Ansari, E. S., Al-Shaikh, I., Abdel-Moati, M., Al-Yafei, M. A. A., & Le Vay, L. (2016). Extreme ^{15}N Depletion in Seagrasses. *Estuaries and Coasts*, 39(6), 1709–1723. <https://doi.org/10.1007/s12237-016-0103-3>
- Yamamuro, M., Kayanne, H., & Yamano, H. (2003). $\delta^{15}\text{N}$ of seagrass leaves for monitoring anthropogenic nutrient increases in coral reef ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 46(4), 452–458. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00463-0](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00463-0)